

中药调控腹膜淋巴孔机制的研究*

吴 玢 李继承 毛连根 董晓巧

内容提要 目的:研究由白术、丹参、党参、泽泻、益母草组成的中药复方治疗腹水的作用,阐明中药调控腹膜淋巴孔,促进腹水转归的机制。方法:中药萃取、扫描电镜观察、计算机图像处理和定量分析。结果:正常小鼠腹腔注射一氧化氮(NO)供体后,腹膜淋巴孔显著扩大($P<0.05$),开放数目明显增加($P<0.01$)。中药灌胃,腹膜淋巴孔面积和开放数目均显著增加($P<0.01$)。中药灌胃后,再给 NO 合酶抑制剂(L-硝基精氨酸),发现中药对腹膜淋巴孔的调控作用被明显逆转:淋巴孔的面积和开放数目都显著减少($P<0.01$)。结论:中药可能是通过升高内源性 NO 浓度,使腹膜淋巴孔开放,促进淋巴孔对腹水的转归,达到消腹水作用。

关键词 中药 腹膜淋巴孔 腹水 一氧化氮

Study of Chinese Herbal Medicine in Treating Ascites and Their Mechanism in Regulating Lymphatic Stomata
WU Yu, LI Ji-cheng, MAO Lian-gen, et al *Institute of Cell Biology and Tissue Engineering, Zhejiang University, Hangzhou (310006)*

Objective: To study the therapeutic effect of Chinese herbal medicines (CHM) in treating ascites to elucidate its mechanism in regulating the lymphatic stomata and promoting the absorption of ascites from the peritoneal cavity. **Methods:** Using scanning electron microscope (SEM) and computerized image processing and quantitative analysis assays, the CHM extract consisting of *Atractylodes macrocephala*, *Salvia miltiorrhiza*, *Codonopsis pilosula*, *Alismatis orientale* and *Leonurus heterophyllus* were studied. **Results:** Intraperitoneal injection of nitric oxide (NO) supplier or CHM administration could cause the average area of lymphatic stomata obviously enlarged ($P<0.05$), and the open numbers significantly increased ($P<0.01$) in normal healthy mice. When L-nitroarginine, a NO synthetase suppressor, was injected after CHM administration, it was found that the regulating effect of CHM on lymphatic stomata was inverted obviously, i. e. the average area and the density of lymphatic stomata were markedly reduced ($P<0.01$). **Conclusion:** CHM might treat ascites through increasing the endogenous NO concentration to open the lymphatic stomata and in turn to conduct the peritoneal water through lymphatic path.

Key words Chinese herbal medicine, lymphatic stomata, ascites, nitric oxide

腹膜淋巴孔是腹膜下毛细淋巴管在腹膜面上的开口。籍腹膜淋巴孔,腹膜腔与淋巴系沟通。所以,腹膜淋巴孔是腹膜腔内物质转归的主要部位。在病理状态下,腹膜淋巴孔—淋巴引流单位—淋巴系也是腹水转归最主要的途径^[1]。以往很多研究指出中药对腹膜淋巴孔起调控作用。但中药通过何种机制发挥其调控功能尚未见报道。本实验应用中药、一氧化氮合酶(NO synthase, NOS)抑制剂及 NO 供体进行进一步研究,以探讨中药对腹膜淋巴孔的调控机制。

材料和方法

1 中药筛选 在临床常用治疗腹水的 75 味药中,我们曾通过实验^(2~4),筛选出白术、丹参、党参、泽泻 4 味中药,另加益母草组成复方进行实验。

2 药物煎制 由白术 640g 丹参 394g 党参 384g 泽泻 384g 益母草 640g 组成中药复方(以上中药均由浙江省中医药研究所提供),经 75% 酒精萃取,旋转蒸发仪(上海电子管十一厂, ZFQ85A 型)回流提纯,获得含生药为 15.2g/ml 的药液 160ml。

3 分组及给药方法 健康成年 NIH 小鼠 40 只,体重 25~30g,雌雄不拘,由浙江大学医学院实验动物中心提供,随机分为对照组、中药组、NO 抑制剂组和 NO 供体组,每组 10 只。对照组、NO 供体组每天分别

* 国家自然科学基金(No. 39970934),浙江省中医管理局科研基金,杭州市科委科研基金(No. 2000123B27)和浙江省分析测试基金(No. 00159)资助项目

浙江大学细胞生物学和组织工程学研究所淋巴学研究室(杭州 310006) 万方数据

以 0.25ml 生理盐水/只灌胃, 15 天。中药组、NO 抑制剂组分别每天以 0.25ml 中药药液/只灌胃, 15 天。第 14、15 天, NO 抑制剂组每天腹腔注射 L-硝基精氨酸 (美国 SIGMA 公司生产) $80\mu\text{g}/\text{只}$, NO 供体组每天腹腔注射硝普钠 (温州市人民制药厂生产, 批号 981130) $50\mu\text{g}/\text{只}$ 。第 15 天, 腹腔注射后 8h 之内以脱椎法处死各组小鼠, 取膈腹膜, 置于 4°C 2.5% 戊二醛 ($\text{pH}7.2$) 中。

4 扫描电镜制样 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, 2% 单宁酸液导电处理, 梯度乙醇脱水, 醋酸异戊酯置换。HCP-2 型 CO_2 临界点干燥仪处理, E-1020 型离

子溅射仪镀金。CAMBRIDGE Stereoscan 260 型扫描电镜观察腹膜淋巴孔, 加速电压 18kV。以 Elscope 计算机图像处理软件进行图像处理。

5 统计学分析 腹膜淋巴孔的孔径和密度以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异用 t 检验分析。

结 果

在扫描电镜下观察, 小鼠膈腹膜有许多呈簇状分布的腹膜淋巴孔。各组腹膜淋巴孔的大小和分布密度有明显差异 (图 1~6)。NO 供体组和中药组, 可见小鼠腹膜淋巴孔分布密度和面积较对照组都有增加, 一

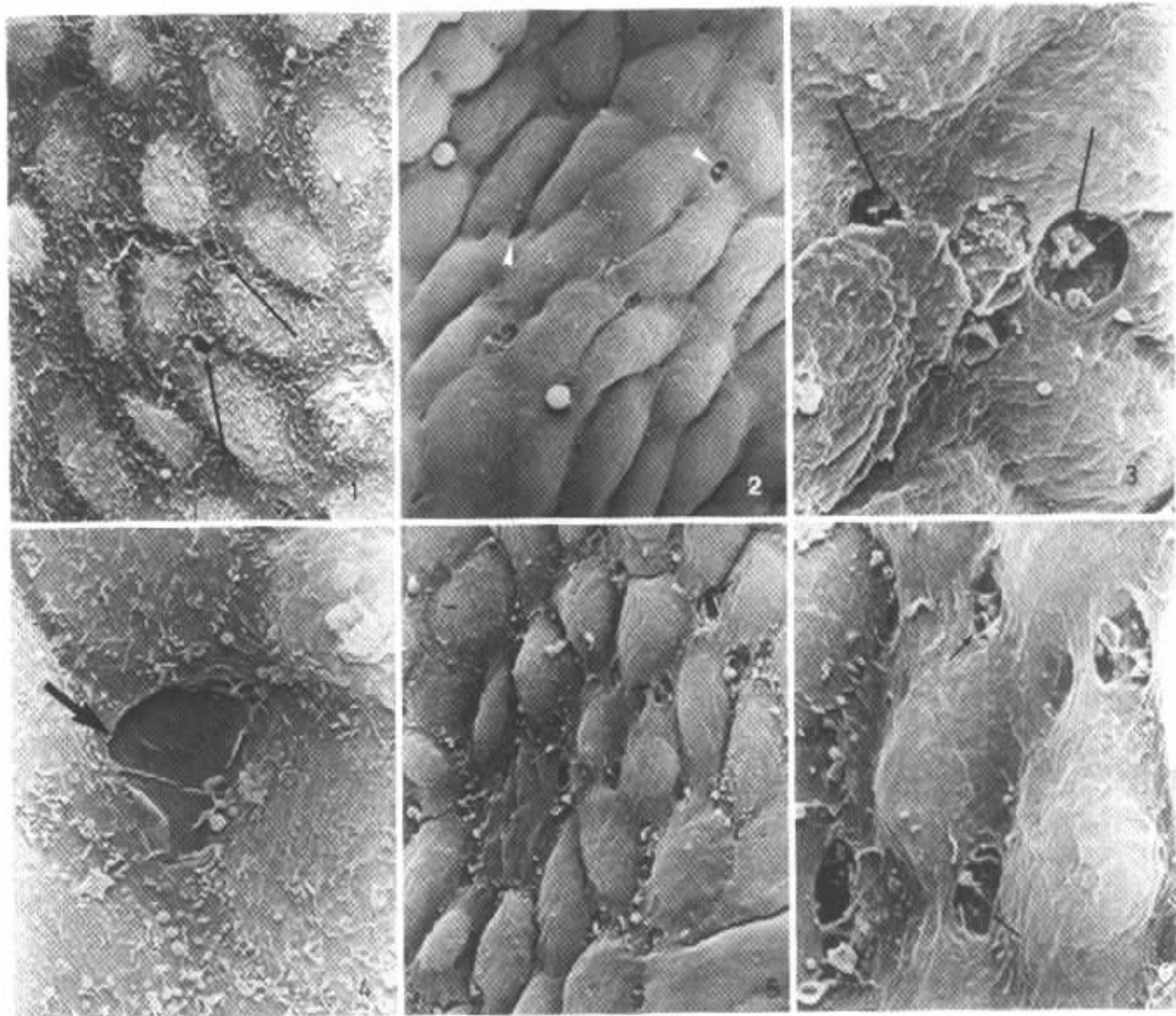


图 1 对照组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 示腹膜淋巴孔 (\uparrow) 的分布密度。 $\times 1600$ 图 2 中药组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 示腹膜淋巴孔 (\uparrow) 开放和分布密度。 $\times 1600$ 图 3 中药组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 腹膜淋巴孔面积扩大, 一些颗粒物质 (\uparrow) 被淋巴孔吸收。 $\times 5400$ 图 4 NO 抑制剂组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 示关闭的腹膜淋巴孔 (\uparrow)。 $\times 5400$ 图 5 NO 供体组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 腹膜淋巴孔 (\uparrow) 的面积扩大, 开放数目增加。 $\times 1600$ 图 6 NO 供体组小鼠膈腹膜扫描电镜观察, 腹膜淋巴孔 (\uparrow) 的面积扩大。 $\times 5400$

表 1 中药、NO 抑制剂和 NO 供体对小鼠腹膜淋巴孔调控作用比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	平均面积(μm^2)	分布密度(个/0.1mm ²)
对照	10	2.65 \pm 0.86	43.32 \pm 19.44
中药	10	3.77 \pm 0.80 **▲	192.40 \pm 79.97 **▲
NO 抑制剂	10	1.46 \pm 0.74 **△	14.20 \pm 10.59 **△
NO 供体	10	3.90 \pm 1.13 *▲	258.08 \pm 131.75 **▲

注 :与对照组比较 ,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与中药组比较 ,△ $P < 0.01$;与 NO 抑制剂组比较 ,▲ $P < 0.01$

些颗粒物被淋巴孔吸收。NO 抑制剂组中腹膜淋巴孔开放面积减小 ,有的则关闭。计算机图像处理和统计学分析结果 (1)中药组和 NO 供体组腹膜淋巴孔平均面积和分布密度均较对照组明显增加 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。NO 抑制剂组较对照组显著减少 ($P < 0.01$)。(2)NO 供体组与中药组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。(3)NO 供体组和中药组较 NO 抑制剂组增加 ,差异均有显著性 ($P < 0.01$)。见表 1。

讨 论

腹腔恶性肿瘤、肝硬化和腹膜炎等均可引起腹水。患者常因大量腹水压迫心、肺等重要器官而危及生命。在腹水治疗中 ,临床上多采用导泻、利尿、发汗和抽腹水等方法 ,但效果不显著或副作用大 ,尤其是对于病重体弱的患者则更难以应用。长期以来 ,中医药治疗肝硬化腹水的显著疗效已引起国内、外学者的广泛关注。然而 ,中药治疗腹水转归的机制仍鲜为人知。随着人体腹膜淋巴孔的发现和腹膜淋巴转归系统(lymphatic drainage system in the peritoneal cavity)的报道 ,首次揭示了腹膜腔内物质转归机理^(1,5)。已有的研究表明 ,在腹膜腔内 ,腹膜淋巴孔具有对物质的主动转归作用。腹水可经腹膜淋巴孔被吸收 ,从腹膜下小管和淋巴引流单位进入淋巴陷窝 ,再经腹膜下淋巴管 ,回流入静脉系统⁽⁵⁾。这一途径为中药治疗腹水提供了实验依据。进一步的研究发现 ,中药治疗腹水系通过促进腹膜淋巴孔对腹水的主动吸收而实现的⁽⁶⁾。本实验的结果表明 ,由白术、丹参、党参、泽泻、益母草组成的中药复方对腹膜淋巴孔具有良好的调控作用。它能使腹膜淋巴孔面积扩大 ,开放数目增加 ,促使腹水经腹膜淋巴孔转归。

根据中医学理论 ,本实验采用的中药复方符合中医治疗腹水的健脾益气、活血化瘀、利水消胀原则。白术健脾祛湿 ,可增加白蛋白 ,纠正白蛋白/球蛋白比值 ,有显著而持久的利尿作用。丹参养血活血化瘀 ,可扩张毛细血管 ,增加组织灌流量 ,改善微循环 ,促使肝细胞修复 ,有利于腹水消退。党参健脾运中 ,鼓舞清阳 ,

调节蛋白比例。泽泻利水渗湿 ,去旧水 ,养新水 ,消水肿。益母草活血祛瘀 ,利水消肿 ,改善微循环 ,大剂量应用时利水作用尤其突出 ,适用于“血不利则为水”之肝硬化腹水。因此 ,该中药复方是利于腹水消退的。

本实验结果发现 ,给 NO 供体(硝普钠)的小鼠 ,腹膜淋巴孔显著扩大 ,闭合的淋巴孔开放增加。喂以中药的小鼠也具有同样作用。在给中药后 ,再用 NO 抑制剂 ,则使中药调节淋巴孔的作用逆转。Chen 的研究 ,已经证实 NO 具有扩张淋巴孔 ,促进淋巴转归作用⁽⁷⁾。据此 ,可以认为中药调控淋巴孔的机制与 NO 浓度有密切关系。NO 即为内皮细胞舒血管因子(endothelium-derived relaxing factor ,EDRF) ,它能使血管舒张 ,通透性增加。目前已经证实 ,NO 通过激活鸟苷酸环化酶途径 ,增加细胞 cGMP ,降低 Ca^{2+} 水平 ,从而舒张血管⁽⁸⁾。中药组可能通过调节内源性 NO 浓度 ,激活参与构成腹膜淋巴孔内皮细胞的鸟苷酸环化酶途径 ,使内皮细胞舒张 ,淋巴孔开放 ,导致淋巴孔对腹水转归增加 ,实现中药对腹水的治疗作用。

参 考 文 献

1. Li Jicheng , Yu Soumin. Study on the ultrastructure of the peritoneal stomata in humans. Acta Anat 1991 ;141:26—30.
2. 李继承 ,吕志连 ,石元和 ,等. 腹膜孔的药物调节和计算机图像处理. 中国医学科学院学报 1996 ;18(3):219—222.
3. 吕志连 ,李继承. 活血化瘀中药治疗腹水机制的研究——丹参对小鼠腹膜孔调控作用的试验观察. 实用中西医结合杂志 1996 ;20(10):1147—1148.
4. 吕志连 ,李继承 ,石元和 ,等. 白术、党参、黄芪对小鼠腹膜孔调控作用的试验观察. 中医杂志 1996 ;37(9):560—561.
5. Li Jicheng , Zhao Zhangren , Zhou Jilin , et al. A study of three-dimensional organization of the human diaphragmatic lymphatic lacunae and lymphatic drainage units. Ann Anat 1996 ;178:537—544.
6. Li Jicheng , Lu Zhilian , Wu Nanping , et al. A scanning electron microscopy and computer image processing morphometric study of the pharmacological regulation of patency of the peritoneal stomata. Ann Anat 1996 ;178:443—447.
7. Chen Xiaobo , Yang Zerang , Li Jicheng. Study of the regulation of macrophage nitric oxide on the peritoneal lymphatic stomata. XXV European Congress of Lymphology , Find Program & Abstract Greece , Thessaloniki , May 1999:29—30.
8. Palatka K , Actorjay C , Huszka M , et al. Nitrogen monoxide (NO) in the function of the gastrointestinal tract and the liver. Orv-Hetil 1997 ;138(24):1555—1559.